

络合剂对燃煤及木材飞灰生物氧化能力的影响^{*}

王玉秋 戴树桂 张 林

马永民

(南开大学环境科学系 300071 天津 E-mail: yqwang@sun.nankai.edu.cn) (天津卫生防病中心 天津 300011)

摘要 利用脱氧核糖氧化法考察了飞灰颗粒物, 包括 5 种燃煤飞灰及一种燃木飞灰, 生物氧化能力以及外加螯合剂的影响。结果证实, 不同来源飞灰颗粒物氧化剂产生能力不同, 且燃煤飞灰产生方式不同, 催化氧化剂产生能力亦不同。外加络合剂的存在对颗粒物氧化能力影响很大, 其中二乙三胺五乙酸(DTPA)对氧化剂的产生有抑制作用, 胺三乙酸(NTA)对所有颗粒物氧化剂产生均有促进作用, CIT(柠檬酸)的存在降低了脱氧核糖的氧化值, EDTA(乙二胺四乙酸)对不同类型飞灰影响不同, 对燃煤飞灰氧化能力有抑制作用, 相反, 对燃木材飞灰颗粒物具有促进作用。

关键词 燃煤飞灰, 燃木飞灰, 络合剂, 活性氧, 脱氧核糖氧化法。

Effects of External Chelators on Capability of Biological Oxidation by Coal and Wood Combustion Fly Ashes

Wang Yuqiu Dai Shugui Zhang Lin

(Department of Environmental Science, Nankai University, Tianjin 300071, China E-mail: yqwang@sun.nankai.edu.cn)

Ma Yongmin

(Tianjin Municipal Sanitation and Diseases Prevention Centre, Tianjin 300011)

Abstract By means of deoxyribose oxidation assay the capability of the biological oxidation generated by fly ashes, including five coal-fired fly ashes and one wood combustion fly ash, as well as effects of external chelators such as diethylenetriaminepentacetic acid (DTPA), nitrolotriacetate (NTA), ethylenediamine tetraacetic acid (EDTA) and citric acid (CIT), have been studied. It was confirmed that the capability to generate oxidant from different sources of fly ashes is dissimilar, moreover coal fly ashes with various kinds of combustion have different catalysis effect for generation of oxidized products. The generations of oxidant by fly ashes are strongly dependent on properties of external chelators, DTPA inhibited generation of oxidant, and NTA promoted oxidation of deoxyribose by all fly ashes, but influence of EDTA on extents of oxidized products varied, ability to catalyze deoxyribose oxidation by coal combustion fly ash decreased, while that by wood combustion enhanced. When CIT was added to the in vitro reaction mixture, chromogen formation was inhibited in a significant manner in comparison with that without adding of chelator.

Keywords coal combustion fly ash, wood combustion fly ash, chelator, reactive oxygen species, deoxyribose assay.

大气颗粒物对人体损伤的机理研究受到各学科的广泛关注^[1,2], 颗粒物上所含大量可变价金属不仅可以在大气环境中参与复杂的物理、化学反应过程, 而且在体内也可能参与催化各种活性氧产生及转化^[3,4]. 活性氧与人体多种疾病发生、发展有密切关系^[5]. 体内(in vivo)及体外(in vitro)实验证实, 矿物燃料飞灰可以促进损伤机体的氧化剂如羟自由基的产生^[6,7]. 为

此, 本文考察了燃煤及燃木材飞灰颗粒物生物氧化能力及外加螯合剂对颗粒物氧化能力的影响。

1 实验

^{*} 北京大学环境与污染控制国家重点联合实验室开放基金资助课题

王玉秋: 男, 33 岁, 理学博士

收稿日期: 1998-11-18

1. 1 样品的采集

选取天津市 5 个燃煤飞灰样, 4 处为取暖锅炉旋风除尘下来的飞灰(编号分别为 NO. 1、NO. 2、NO. 3、NO. 4) 及一处手工茶炉产生的飞灰(编号 NO. 5), 所用煤均为天津市统配煤. 另外还于大兴安岭森林中采集燃木材飞灰(NO. 6). 采集时间均为 1997-12. 6 种飞灰颗粒物均过筛(200 目), 得到小于 74μm 颗粒物, 低温保存备用.

1. 2 颗粒物氧化剂产生能力的测定

称取飞灰 10mg, 分别加入 2ml 2. 0 mmol/L 络合剂, 再各加入 2ml 抗坏血酸、脱氧核糖和 H₂O₂, 于混合液中的初始化浓度为 1. 0 mmol/L, 37℃, 恒温振荡 30min, 12000r/min 离心 30min, 取上清液 1ml, 再加入 1ml 1. 0% (W/V) TBA 及 1ml 冰醋酸, 100℃ 加热 10min, 于冰水中冷却, 取该试液于 λ= 532nm 波长下测定吸光度值.

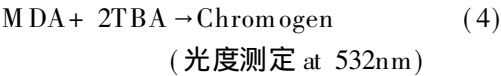
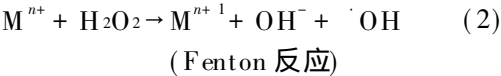
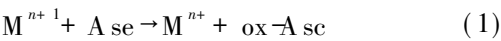
1. 3 仪器与试剂

脱氧核糖为 Fluka 公司产品, 其它试剂均为分析纯. 所用水为二次蒸馏水, 并冲 N₂ 15min 以除去 DO. 光度计为北京通用仪器设备公司生产的 General TU-1201 型紫外可见分光光度计, 测定波长为 532nm, 光谱扫描范围 480nm ~ 580nm. ICP-AES 为美国热电子公司生产的 ICP-61 发射光谱仪并经 IBM PC 机进行数据的采集处理, 金属离子测定条件为: 功率

1. 1kW, Ar 冷却气流量 15L/min, Ar 载气流量 0. 6L/min, 观测高度 16mm, 狭缝 20μm.

2 结果与讨论

活性氧(ROS) 主要包括 O₂⁻、H₂O₂ 和 ·OH 等反应活性较高的氧衍生物, 其中 ·OH 的反应活性最高, 其它形式活性氧也往往通过金属离子介导转变为 ·OH 而损伤生物分子^[8]. 脱氧核糖氧化体系被广泛作为考察石棉^[9]、煤尘^[10]以及各种天然源、人为源飞灰^[11]颗粒物促进氧化剂如羟自由基产生能力的体外模型体系, 在 H₂O₂ 及抗坏血酸(Asc) 存在下发生如下反应^[12]:



(1) ~ (4) 式中 M 代表颗粒物上所含金属; Frag-DR 代表与羟自由基反应产生的脱氧核糖碎片; MDA 代表丙二醛; TBA 代表硫代巴比妥酸; Chromogen 代表用于光度测定的最后产物.

本文所选 6 种飞灰颗粒物于 1. 0mmol/L HCl 溶液中可变价典型金属离子浸取浓度如表 1 所示.

表 1 飞灰颗粒物上可变价金属在 1. 0mmol/L HCl 溶液中的浸取浓度($\bar{x} \pm s, n= 3$) / μg · g⁻¹

飞灰	Cu	Ni	Pb	Cr	Cd	Co	Zn	Mn	Fe
No. 1	30. 09±3. 61	71. 56±8. 59	14. 82±1. 78	38. 08±4. 57	0. 01±0. 01	5. 22±0. 63	88. 40±10. 61	188. 27±22. 59	6450. 96±774. 12
No. 2	13. 57±1. 63	25. 83±3. 10	26. 25±3. 15	13. 26±1. 59	0. 03±0. 01	3. 64±0. 44	69. 72±8. 37	99. 04±11. 88	4409. 62±529. 15
No. 3	15. 92±1. 91	28. 42±3. 41	31. 59±3. 79	23. 42±2. 81	0. 30±0. 04	5. 64±0. 68	71. 12±8. 53	131. 25±15. 75	6787. 50±814. 50
No. 4	10. 03±1. 20	33. 37±4. 00	20. 80±2. 50	36. 16±4. 34	0. 01±0. 01	5. 08±0. 61	52. 78±6. 33	129. 62±15. 55	6309. 62±757. 15
No. 5	51. 91±6. 23	89. 97±10. 80	213. 85±25. 66	65. 83±7. 90	7. 35±0. 88	14. 96±1. 80	484. 04±58. 08	260. 58±31. 27	8872. 12±1064. 65
No. 6	35. 98±4. 32	39. 24±4. 71	196. 73±23. 61	48. 47±5. 82	10. 02±1. 20	6. 64±0. 80	1136. 54±136. 38	2745. 19±329. 42	15201. 92±1824. 23

不论在天然环境中, 还是摄入人体以后, 颗粒物的周围环境对反应活性均有较大影响. 乙二胺四乙酸(ethylene diamine tetraacetic acid, EDTA)、二乙三氯五乙酸(diethylenetriamine pentacetic, DTPA) 和氮三乙酸(nitrolotriace-

tate, NTA) 是被经常使用的金属螯合剂, 对金属离子的生物可利用性及环境毒理特性亦有很大影响^[13]. Halliwell 等人研究表明^[14], 在与活性氧相关的典型人体病理环境中, 金属离子可能以柠檬酸络合物形式存在, 为此, 本文分别考

察了体外模型体系中 EDTA、DTPA、NTA 及柠檬酸(citric acid, CIT) 存在环境对飞灰颗粒物羟自由基产生能力的影响。

2.1 不同络合剂存在下反应体系光度测定值的可比性

为了考察脱氧核糖氧化体系中不同络合剂 EDTA、DTPA、NTA 和 CIT 存在下最大吸收光谱的可比性,首先在 480nm ~ 580nm 波长范围内进行了光谱扫描,为便于观察局部细节,对局部波长范围进行了放大处理,结果如图 1 所示。由图 1 可知,在考察的范围内,在 532nm 临近范围内各反应体系的吸收谱是相近的,表明在不同络合剂参与环境下,对于不同来源的飞灰颗粒物,虽然所含成分不同,含量不同,但对最后的光度值测定不产生明显影响。

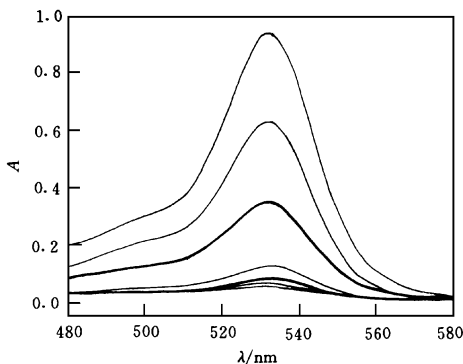


图 1 不同金属络合剂参与下飞灰颗粒物产生的脱氧核糖氧化显色光谱的比较

2.2 无络合剂参与下不同飞灰颗粒物氧化剂产生能力比较

如图 2 所示,在无外加络合剂参与的 6 种飞灰颗粒物氧化体系中,吸光度值各不相同,虽然试样 No. 1 ~ No. 4 均为经旋风除尘所得的燃煤飞灰,但是它们所产生的氧化能力并不相同,燃木材飞灰 No. 6 的氧化能力相对是最低的。颗粒物上由于含有大量可变价的金属,可以催化高反应活性的氧自由基产生,由于各种颗粒物来源不同(燃煤或木材),以及产生条件不同(如燃烧温度,燃烧方式等),因而具有氧化还原反应活性的金属含量及形态分布亦不相同,故颗粒物催化羟自由基产生能力不同。

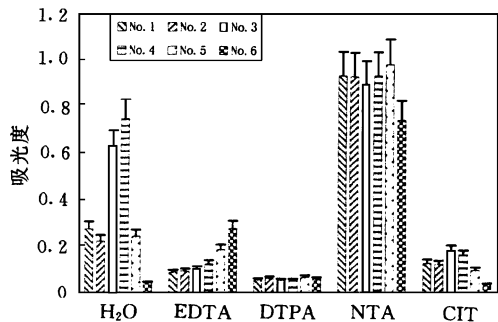


图 2 络合剂的加入对颗粒物氧化值产生的影响

2.3 不同络合剂对飞灰颗粒物氧化能力的影响

在 DTPA 存在条件下,无论是燃煤颗粒物还是燃木材颗粒物催化产生自由基能力均被有效抑制,这可能是由于 DTPA 对变价金属离子的高螯合能力造成的,即处于高价金属螯合物不能发生反应式(1)、(2)所示反应,该结果与文献报道是相似的^[15]。

EDTA 参与下的各飞灰颗粒物氧化反应体系表现出不同的变化趋势,由图 2 可知,虽然 5 种燃煤飞灰颗粒物(No. 1 ~ No. 5)在 EDTA 络合剂加入体系中的催化氧化能力各不相同,但是与无络合剂参与体系相比,它们的吸光度值均有不同程度的降低。而对于燃木材飞灰颗粒物体系变化趋势相反,即 EDTA 的加入增强了该类飞灰颗粒物氧化剂产生能力。虽然在典型 Fenton 反应体系($\text{Fe}^{2+}/\text{H}_2\text{O}_2$)中利用 ESR 方法证实,EDTA 的加入显著提高 $\cdot\text{OH}$ 的产生浓度^[16],但是有资料表明,在不同的反应体系中 EDTA 的影响是不同的,甚至是相反的结果^[17],提示络合剂 EDTA 加入对活性氧的产生机理有很大的影响。本文的研究结果提示,络合剂的加入在某些情况下可以使燃木材飞灰颗粒物的氧化能力极大地提高,从而增加了对生物体的损伤能力。

在本文所考察的 4 种络合剂中,NTA 对颗粒物催化羟自由基产生能力影响最显著,6 种颗粒物体系的氧化能力均有一定程度的提高。已知 NTA 是与某些癌症的产生有关的金属螯合剂,而且其致癌机理被认为与促进活性氧产

生有关, 本文研究结果与文献报道是相似的^[18].

虽然 CIT 对金属的络合能力与 EDTA、DTPA 及 NTA 相比不是很高, 但是由于它与典型氧自由基参与的病理环境相联系而被关注, 图 2 表明, 在 CIT 存在条件下 6 种颗粒物的氧化值均有不同程度的降低, 这与典型 Fenton 反应体系中所得到结果是不同的^[16], 可能是由于 CIT 相对较低的金属螯合能力不足以改变颗粒物上金属离子的存在形态, 相反, 由于 CIT 所含不饱和键, 反而对 OH 起到了部分清除作用.

3 结论

(1) 脱氧核糖氧化方法是一种快速、灵敏、准确的用于研究固体颗粒物上金属催化氧化能力的一种体外实验方法.

(2) 不同来源(燃煤及燃木材)以及不同燃烧方式(机械燃烧及手烧)生成的飞灰颗粒物产生高反应活性氧化剂的能力不同.

(3) 不同络合剂 DTPA、EDTA、NTA 及 CIT 对颗粒物催化羟自由基产生能力的影响是不同的, 其中 DTPA 是颗粒物催化氧化反应的抑制剂, NTA 对 6 种颗粒物催化活性氧产生具有显著的促进作用, CIT 对飞灰颗粒物反应体系的氧化能力有一定的清除作用, 而 EDTA 对燃煤飞灰氧化性具有抑制作用, 对燃木材飞灰相反地具有促进作用.

参 考 文 献

- Reichhardt T. Weighing the health risks of airborne particulates. *Environ. Sci. Technol.*, 1995, **29** (8): 360A ~ 364A
- Bascom R, Bromberg P, Costa D A. Health effects of outdoor air pollution. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, 1996, **153**(1): 3 ~ 50
- Ghio AJ, Kennedy TP, Schapira RM et al. Hypothesis: is lung disease after silicate inhalation caused by oxidant generation? *Lancet*, 1990, **336**(6): 967 ~ 969
- 王玉秋, 张林, 戴树桂等. 可吸入颗粒物上铁介导的活性氧产生及其对肺损伤的影响. *环境科学进展*, 1998, **6**(supl.): 118 ~ 123
- Knight JA. Diseases related to oxygen-derived free radicals. *Ann. Clin. Lab. Sci.*, 1995, **25**(1): 111 ~ 121
- Kadiiska MB, Mason RP, Dreher KL et al. In vivo evidence of free radical formation in the rat lung after exposure to an emission source air pollution particle. *Chem. Res. Toxicol.*, 1997, **10**(8): 1104 ~ 1108
- Ghio AJ, Stonehuerner J, Pritchard RJ et al. Humic-like substances in air pollution particulates correlate with concentrations of transition metals and oxidant generation. *Inhal. Toxicol.*, 1996, **8**(2): 479 ~ 494
- 王玉秋, 何锡文. 铁介导的羟自由基对生物分子的损伤机理. *生理科学进展*, 1998, **29**(1): 63 ~ 66
- Ghio A J, Zhang J, Piantadosi C A. Generation of hydroxyl radical by crocidolite asbestos is proportional to surface $[\text{Fe}^{3+}]$. *Arch. Biochem. Biophys.*, 1992, **298**(3): 646 ~ 650
- Ghio A J, Quigley D R. Complexation of iron by humic-like substances in lung tissue: role in coal workers' pneumoconiosis. *Am. J. Physiol. (Lung Cell Mol Physiol 11)*, 1994, **267**(2): L173 ~ L179
- Pritchard RJ, Ghio AJ, Lehmann JR et al. Oxidant generation and lung injury after particulate air pollutant exposure increase with the concentration of associated metals. *Inhal. Toxicol.*, 1996, **8**(2): 457 ~ 477
- Aruoma O. Assessment of potential prooxidant and antioxidant actions. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 1996, **73**(8): 1617 ~ 1625
- Hardy JA, Aust AE. Iron in asbestos chemistry and carcinogenicity. *Chem. Rev.*, 1995, **95**(3): 97 ~ 118
- Grootveld M, Bell JD, Halliwell B et al. Non-transferrin-bound iron in plasma or serum from patients with idiopathic hemochromatosis. Characterization by high-performance liquid chromatography and nuclear magnetic resonance spectroscopy. *J. Biol. Chem.*, 1989, **264**(11): 4417 ~ 4422
- Franzini E, Sellak H, Hakim J et al. Comparative sugar degradation by (OH) produced by the iron-driven Fenton reaction and gamma radiolysis. *Arch. Biochem. Biophys.*, 1994, **309**(2): 261 ~ 265
- 王玉秋, 白令君, 何锡文. 复方生脉饮对羟自由基的清除作用研究. *中国中药杂志*, 1998, **13**(1): 45 ~ 47
- Kozlov A B, Ostrachovitch E A, Afanas'ev I B. Mechanism of inhibitory effects of chelating drugs on lipid peroxidation in rat brain homogenates. *Biochem. Pharmacol.*, 1994, **47**(4): 795 ~ 799
- Hamazaki S, Okada S, Li J et al. Oxygen reduction and lipid peroxidation by iron chelates with special reference to ferric nitrilotriacetate. *Arch. Biochem. Biophys.*, 1989, **272**(1): 10 ~ 17